

Pluripotency

Computational stem cell biology
Stem cells
regenerative therapies
Somatic stem cell re-programming
disease modeling
cancer stem cells
drug development
diseases
Pluripotency
development
regenerative therapies
Somatic stem cell re-programming
drug development
disease modeling
cancer stem cells

Angefärbte Zellstrukturen der Niere

Pluripotenz und Reprogrammierung

Flexible Zellprogramme auf dem Prüfstand

Mit den spektakulären Fortschritten bei der Reprogrammierung erlebt die Stammzellforschung einen nie dagewesenen Boom. Zahlreiche Forscher gehen auch in Deutschland dem Geheimnis der Wandlungsfähigkeit von Zellen auf den Grund und kommen damit dem Phänomen der Pluripotenz Schritt für Schritt näher. Eine eigene GSCN-Fachgruppe versammelt die ausgewiesene Expertise hierzulande. Neueste molekularbiologische Methoden helfen den Forschern dabei, die Technik des Reprogrammierens weiterzuentwickeln und ihre Translation in biomedizinische Anwendungen voranzutreiben.

Seit der inzwischen mit dem Nobelpreis gewürdigte Shinya Yamanaka 2006 die Kunst der Reprogrammierung von Mauszellen und bald danach auch von menschlichen Zellen erstmals demonstriert hat, wird nahezu im Monatstakt über neue Entwicklungen berichtet. Yamanaka hatte mit dem berühmten Quartett von Transkriptionsfaktoren (Oct4, Sox2, c-Myc und Klf4) ausdifferenzierte Hautzellen in sogenannte induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen) verwandelt (siehe Grafik auf Seite 33). Sie sind in ihren Eigenschaften den embryonalen Stammzellen (ES-Zellen) sehr ähnlich, denn sie lassen sich in fast alle der mehr als 200 Zelltypen des Körpers entwickeln, ohne ethische Probleme bei ihrer Herstellung aufzuwerfen. Zudem ist es mit der Technik möglich, patienteneigene Zellen herstellen, die nicht vom Immunsystem abgestoßen werden.

Erstklassige Forschung

Bedeutende Forschungsbeiträge zur Pluripotenz und Reprogrammierung kommen dabei nicht zuletzt aus den deutschen Stammzelllabors. Das spiegelt etwa eine Ende 2013 von EuroStemCell und dem Verlag Elsevier vorgelegte Publikationsanalyse wider. Hinsichtlich der Anzahl und der Zitierungen der Publikationen in den Jahren 2008 bis 2012 schafften es beim Thema iPS-Zellen zwei deutsche Stammzellforschungs-Hochburgen sogar unter die internationalen Top 30: das Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin in Münster und die Medizinische Hochschule in Hannover (MHH).

Hans Schöler, Direktor am MPI für molekulare Biomedizin, ist einer der Initiatoren der GSCN-Fachgruppe zu „Pluripotenz und Reprogrammierung“. Sein Forscherteam beschäftigt sich mit diesem Thema schon seit vielen Jahren. Unter anderem haben die Münsteraner Forscher die besondere Rolle des Regulators und embryonalen Stammzellmarkers Oct4 in der Entwicklung unter die Lupe genommen. Zudem sind sie dabei, die iPS-Technik gezielter und schonender einzusetzen. Hierzu hat die Gruppe um Holm Zaehres die zentrale Einheit „Stem Cell Engineering“ aufgebaut. Eine weitere ‚iPS-Schmiede‘ ist die MHH. Ulrich Martin vom dort angesiedelten Exzellenzcluster REBIRTH konzentriert sich unter anderem

auf die iPS-basierte Herstellung von Herzmuskelzellen und treibt mit seinem Team die Herstellung großer Mengen von Zellen in entsprechenden Bioreaktoren voran.

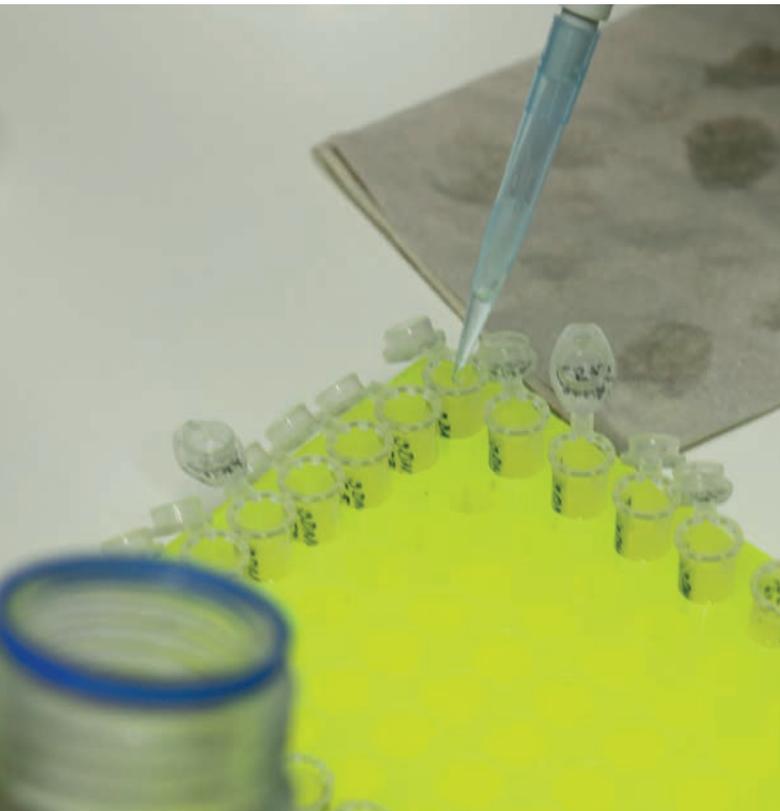
Die iPS-Technologie weiterentwickeln

Die Fortschritte in der iPS-Technik sind atemberaubend. Viele Forscher in den Stammzelllabors in Deutschland und weltweit sind dabei, die Rezeptur zu verfeinern und die iPS-Technik sicherer und effizienter zu machen. Zu ihnen zählt Micha Drukker vom Institut für Stammzellforschung am Helmholtz Zentrum München. Er ist der zweite der drei Initiatoren der wissenschaftlichen GSCN-Fachgruppe. „Wir setzen unter anderem künstliche mRNA-Moleküle ein, um die Zellen zu reprogrammieren“, sagt Drukker. „Sie wandeln humane Zellen rasch und effizient zu iPS-Zellen um.“ Eine möglichst schnelle Herstellung ist deshalb wichtig, damit sich in der Zellkultur nicht noch zusätzliche Mutationen anreichern. Am Zentrumsstandort in Neuherberg baut Drukker derzeit eine zentrale Service-Einheit auf - die „hiPS Cell Unit“. Sie soll als experimentelle Plattform dienen, an der iPS-Zellen von Patienten für Forschungspartner hergestellt, eingehend überprüft und zu bestimmten Zelltypen differenziert werden können. Ähnliche Initiativen existieren auch an weiteren deutschen Standorten in Berlin, Bonn, Dresden, Hamburg, Hannover, Münster und übergreifend an den bayerischen Hochschulstandorten des Forschungsverbundes ForIPS.

Komplexe Netzwerke verstehen

Pluripotenz in Zellen künstlich zu erzeugen, sei das eine. Zu verstehen, wie dieser Zustand tatsächlich reguliert wird, das andere, sagt Drukker. „Er entsteht durch das komplexe Zusammenspiel von Genexpressionsprogrammen, epigenetischen Mechanismen und Signalprozessen“, sagt der Stammzellforscher. „Wir wollen entschlüsseln, wie dieses Ensemble miteinander verwoben ist.“ Drukker interessiert sich genau für jenen Moment im Leben einer pluripotenten Stammzelle, in dem sie den Entwicklungsschritt hin zu einer Gewebe-Vorläuferzelle macht. Es gibt eine Reihe von Kernfragen, auf die die Stammzellforscher auch im Rahmen der GSCN-Fachgruppe nach Antworten suchen.

Wie wird Pluripotenz kontrolliert, besonders in naiven oder bereits in ihrem Entwicklungspotenzial eingeschränkten, sogenannten „primed“ ES-Zellen? Worin unterscheiden sich ES-Zellen bei Mäusen und Menschen? Wie ähnlich sind sich ES-Zellen und iPS-Zellen wirklich? Zur Klärung dieser Fragen kommen die verschiedenen Zelltypen und -stadien auf den Prüfstand. So zum Beispiel auch an der RWTH Aachen in den Labors von Martin Zenke und Wolfgang Wagner vom Institut für Biomedizinische Technologien. James Adjaye am Universitätsklini-



Laborimpressionen

kum Düsseldorf nähert sich dem Phänomen Pluripotenz unter anderem mit systembiologischen Ansätzen.

Direkte Programmierung

Große Aufmerksamkeit zieht eine weitere Entwicklung auf sich: Die sogenannte direkte Programmierung oder auch Transdifferenzierung eines Zelltyps in einen anderen, ganz ohne über den Zwischenschritt der pluripotenten Stammzelle zu gehen. Forscher versuchen, diese direkte Umprogrammierung von Zellen in der Petrischale weiter zu vereinfachen. Und auch in diesem aufstre-

benden Forschungsfeld mischen deutsche Forscher vorne mit. So ist es dem Team um Hans Schöler gelungen, Hautzellen direkt in neurale Stammzellen zu verwandeln. Frank Edenhofer von der Universität Würzburg und Oliver Brüstle vom Bonner Institut für Rekonstruktive Neurobiologie und dem LIFE&BRAIN Forschungszentrum sind ebenfalls dabei, Hautzellen direkt in induzierte neurale Stammzellen (iNSC) zu verwandeln und die Protokolle dafür zu verfeinern.

Reprogrammierung im Körper auslösen

Mathias Treier, Forschungsgruppenleiter am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) in Berlin, ist der dritte im Bunde der Initiatoren der GSCN-Fachgruppe. Aus der Perspektive eines Entwicklungsbiologen konzentriert er sich auf zelluläre Entscheidungen in lebenden Organismen. „Man darf nicht vergessen, dass ES-Zellen und iPS-Zellen im Labor erzeugte, künstliche Systeme sind“, betont Treier. Für den Einsatz in regenerativen Therapien erscheint ihm deshalb der Zellersatz aus dem Labor eher nicht geeignet. „Wir müssen vielmehr den Selbstheilungsprozess vor Ort in den Organen stimulieren“, ist Treier überzeugt. Für eine solche Reprogrammierung *in vivo* gelte es, die richtigen Schalter zu finden. Treier hat mit seinem Team etwa einen molekularen Schalter entdeckt, der bei Mäusen eine funktionelle Umwandlung von Eierstöcken in Hodengewebe bewirken kann. Solche Umschaltvorgänge könnten auch im Gehirn passieren, etwa um Gliazellen in Neuronen umzuwandeln. Ein Phänomen, das Magdalena Götz vom Institut für Stammzellbiologie am Helmholtz-Zentrum in München und Benedikt Berninger an der Universität Mainz erforschen.

Forschungsnetze in Deutschland

Ansätze, um das Potenzial der Pluripotenz und der Zellprogrammierung weiter auszuloten, sind in den vergangenen Jahren von den wichtigen deutschen Forschungsförderorganisationen unterstützt worden. So finanziert die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)

Foto: Life&Brain

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Buch

MDC

Interdisziplinäre Spitzenforschung – von den molekularen Grundlagen bis hin zur Anwendung in der Prävention, Diagnose und Therapie von Krebs, Herz-Kreislauf Erkrankungen oder



Funktionsstörungen des Nervensystems – ist das Ziel des MDC auf dem Campus Buch. Das vom MDC und der Charité gegründete Berliner Institut für Gesundheitsforschung (Berlin Institute of Health, BIH) und das Berlin Institute for Medical Systems Biology (BIMSB) im MDC verstärken mit systembezogenen Ansätzen diese Forschungsbereiche. Das MDC bietet PhD-Studenten, Postdocs und Gruppenleitern eine Reihe interessanter stammzellbezogener Fragestellungen. Dazu gehören Themen rund um Blutbildung, Entwicklung des Immunsystems, Krebsmonitoring, Krebsstammzellen, Organentwicklung und vieles mehr. „Möglichkeiten der Kooperation mit

klinischen Forschergruppen, ein umfangreiches Angebot innovativer Technologieplattformen und ausgezeichnete Tierversuchseinrichtungen für unterschiedlichste Modellorganismen machen das MDC zu einem hervorragenden Standort für die Stammzellforschung“, betont MDC-Gruppenleiter Professor Mathias Treier.

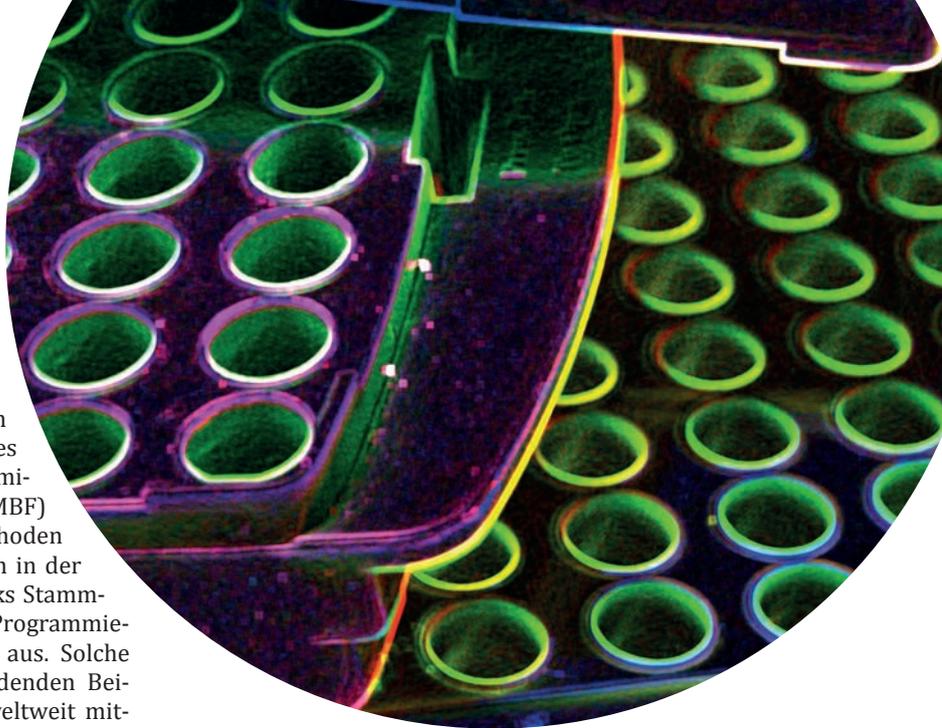
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) Berlin-Buch
Robert-Rössle-Str. 10, 13125 Berlin
www.mdc-berlin.de

unter anderem seit 2008 das von Albrecht Müller von der Universität Würzburg koordinierte Schwerpunktprogramm SPP 1356 „Pluripotency and Cellular Reprogramming“, in dem mehr als 25 Arbeitsgruppen aus ganz Deutschland interdisziplinär dieses Forschungsfeld bearbeiten. Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) wiederum fördert gezielt alternative Methoden zur Gewinnung von Stammzellen. Und auch in der Forscherförderung des Kompetenznetzwerks Stammzellforschung NRW machen Projekte zur Programmierung von Zellen einen gewichtigen Anteil aus. Solche Forschungsprojekte liefern einen entscheidenden Beitrag, um mit den rasanten Fortschritten weltweit mithalten zu können. Schließlich ist – bedingt durch die vergleichsweise restriktive Stammzellgesetzgebung – das notwendige Know-how für die Arbeit mit pluripotenten Zellen hierzulande langsamer gewachsen als in anderen Ländern, in denen schon früh mit humanen ES-Zelllinien experimentiert wurde.

„Mit der GSCN-Fachgruppe wollen wir den wissenschaftlichen Austausch in Deutschland weiter intensivieren“, sagt Treier. So entstehe eine Keimzelle, aus der mögliche

Kollaborationen hervorgehen könnten. Der Münchener Forscher Micha Druker wiederum kann sich vorstellen, im Rahmen der Fachgruppe Strukturen oder Online-Datenbanken aufzubauen, über die man etwa Protokolle austauschen kann. Und er denkt über Workshops nach, die GSCN-Mitgliedern offen stehen sollen, um ihr Wissen über neue molekularbiologische Technologien zu vermitteln.

Text: Philipp Graf



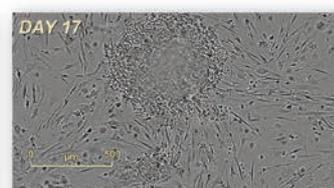
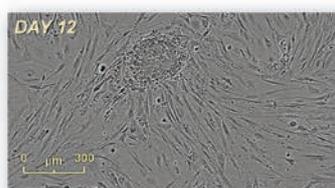
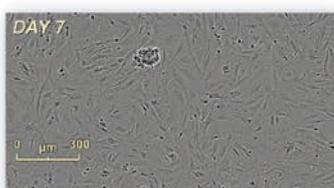
Aufnahme seltener Ereignisse bei der Reprogrammierung von iPSCs



Die kontinuierliche Kontrolle von Zellwachstum und Wachstumsverhalten kann die Aussagekraft aller Prozesse in der Gewebekultur oder Zell-basierten Untersuchungen außerordentlich verbessern. iPSC-Labore entwickeln immer effizientere Methoden Zellen herzustellen, aber Stammzellen und somatische Vorläuferzellen sind oft sehr empfindlich und deren Untersuchung in der sterilen Werkbank sehr mühsam. Das IncuCyte-Mikroskop ermöglicht einen hohen Durchsatz und seine besondere Platzierung die Kontrolle aus der Ferne – ohne die Zellen aus dem Inkubator zu nehmen. Die Vereinfachung und Automatisierung der Kontrolle mit dem IncuCyte minimiert die Zeitdauer, die Zellen und Anwender unter nicht-optimalen Bedingungen verbringen müssen und stellt einen wichtigen Schritt zum Erfolg dar. Arbeiten, die normalerweise in der sterilen Werkbank

durchgeführt werden mussten, können nun am PC erledigt werden; Bilder der verschiedenen Gefäße und Wells werden übers Netzwerk an jeden vernetzten Arbeitsplatz übertragen, ohne die Zellen zu stören oder Stress auszusetzen. Software-Werkzeuge ermöglichen die Verfolgung und Markierung von Kolonien und Werkzeug-Zubehör die Markierungen der Gefäße, wodurch das „Wiederfinden“ der Kolonien bei der Pflege der Kulturen vereinfacht wird. Durch die kontinuierliche Kontrolle bekommt man eine einzigartige Einsicht in die Entwicklung neuer, seltener und unvorhergesehener Ereignisse.

Für weitere Informationen besuchen sie bitte unsere Homepage www.essenbioscience.com oder kontaktieren **Dr. Peter Djali, European Sales Manager, djali@essenbio.com**



The CellPlayer™ Kinetic Stem Cell Application using the IncuCyte ZOOM™ Live Content Imaging System. Seven days after reprogramming fibroblasts with CytoTune®, transitioning cells are re-seeded onto feeder cells. Colony emergence over time was observed. Here, representative images taken day 7, 12 and 17 during reprogramming show a colony's evolution.



**INCUCYTE™
ZOOM**

Live Content Imaging Within Your Incubator